

PCTWELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM
Internationales BüroINTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

(51) Internationale Patentklassifikation ⁶: A61K 31/195, 31/425, 38/06	A1	(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 95/06465 (43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 9. März 1995 (09.03.95)
(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP94/02946 (22) Internationales Anmeldedatum: 2. September 1994 (02.09.94) (30) Prioritätsdaten: P 43 29 857.5 3. September 1993 (03.09.93) DE (71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): DEUTSCHES KREBSFORSCHUNGSZENTRUM STIFTUNG DES ÖFFENTLICHEN RECHTS [DE/DE]; Im Neuenheimer Feld 280, D-69120 Heidelberg (DE). (72) Erfinder; und (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): DRÖGE, Wulf [DE/DE]; Mittlerer Rainweg 2, D-69118 Heidelberg (DE). (74) Anwalt: MÜLLER-BORÉ & PARTNER; Isartorplatz 6, D-80331 München (DE).		(81) Bestimmungsstaaten: JP, US, europäisches Patent (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE). Veröffentlicht <i>Mit internationalem Recherchenbericht.</i>
(54) Title: THIOL COMPOUNDS FOR STRENGTHENING THE IMMUNE SYSTEM AND IMMUNE REACTIONS (54) Bezeichnung: THIOLVERBINDUNGEN ZUR STÄRKUNG DES IMMUNSYSTEMS UND VON IMMUNREAKTIONEN (57) Abstract <p>A thiol compound, in particular cysteine, a derivative and/or analogue thereof, are used to strengthen the immune system and immune reactions.</p> (57) Zusammenfassung <p>Die vorliegende Erfindung betrifft die Verwendung einer Thiolverbindung, insbesondere Cystein, einem Derivat und/oder Analogen davon zur Stärkung des Immunsystems und von Immunreaktionen.</p>		

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AT	Österreich	GA	Gabon	MR	Mauretanien
AU	Australien	GB	Vereinigtes Königreich	MW	Malawi
BB	Barbados	GE	Georgien	NE	Niger
BE	Belgien	GN	Guinea	NL	Niederlande
BF	Burkina Faso	GR	Griechenland	NO	Norwegen
BG	Bulgarien	HU	Ungarn	NZ	Neuseeland
BJ	Benin	IE	Irland	PL	Polen
BR	Brasilien	IT	Italien	PT	Portugal
BY	Belarus	JP	Japan	RO	Rumänien
CA	Kanada	KE	Kenya	RU	Russische Föderation
CF	Zentrale Afrikanische Republik	KG	Kirgisistan	SD	Sudan
CG	Kongo	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	SE	Schweden
CH	Schweiz	KR	Republik Korea	SI	Slowenien
CI	Côte d'Ivoire	KZ	Kasachstan	SK	Slowakei
CM	Kamerun	LI	Liechtenstein	SN	Senegal
CN	China	LK	Sri Lanka	TD	Tschad
CS	Tschechoslowakei	LU	Luxemburg	TG	Togo
CZ	Tschechische Republik	LV	Lettland	TJ	Tadschikistan
DE	Deutschland	MC	Monaco	TT	Trinidad und Tobago
DK	Dänemark	MD	Republik Moldau	UA	Ukraine
ES	Spanien	MG	Madagaskar	US	Vereinigte Staaten von Amerika
FI	Finnland	ML	Mali	UZ	Usbekistan
FR	Frankreich	MN	Mongolei	VN	Vietnam

Thiolverbindungen zur Stärkung des Immunsystems und von Immunreaktionen

Die vorliegende Erfindung betrifft die Verwendung einer Thiolverbindung, insbesondere Cystein, einem Derivat und/oder Analogon davon zur Stärkung des Immunsystems und von Immunreaktionen.

Das Immunsystem hat eine wichtige Funktion bei der Abwehr von lebensbedrohenden Infektionen und steuert darüber hinaus durch die Bereitstellung von Cytokinen und Lymphokinen eine Reihe von physiologischen Prozessen. Innerhalb des Immunsystems kommen den CD4⁺ T-Lymphozyten besonders zentrale Funktionen zu. Als sogenannte Helfer-T-Zellen kontrollieren und unterstützen sie die Funktion von anderen immunologisch relevanten Zellen, wie die Funktion der Antikörper-produzierenden B-Zellen, der zytotoxischen CD8⁺ T-Lymphozyten und der Monozyten und Makrophagen.

In der klinischen Praxis besteht ein großer Bedarf für immunstärkende Maßnahmen, besonders in zwei Standardsituationen. Die erste betrifft Immunschwächeerscheinungen, die zum Teil zu lebensbedrohenden opportunistischen Infektionen führen können. Die hohe Inzidenz von opportunistischen Infektionen bei der Immunschwäche AIDS wird z.B. maßgeblich auf den starken Verlust von CD4⁺ T-Zellen zurückgeführt, der durch die HIV-Infektion ausgelöst wird. Immunschwächeerscheinungen mit einer gehäuften Inzidenz von opportunistischen Infektionen finden sich ferner auch bei anderen Erkrankungen, wie bestimmten Krebserkrankungen, und bei Sportlern. Die zweite Standardsituation betrifft die Potenzierung von konkreten Immunreaktionen, z.B. gegen körpereigene Tumorzellen oder Fremddantigene im Zusammenhang mit Vakzinierungsprogrammen.

Bisherige⁰ zur Stärkung des Immunsystems und von Immunreaktionen ergriffene Maßnahmen führten allerdings vielfach nicht zu befriedigenden Ergebnissen.

Der vorliegenden Erfindung liegt somit die Aufgabe zugrunde, ein Mittel bereitzustellen, mit dem das Immunsystem und Immunreaktionen, insbesondere in obigen Standardsituationen, erfolgreich gestärkt werden können.

Erfindungsgemäß wird dies durch die Verwendung einer Thiolverbindung, insbesondere Cystein, einem Derivat und/oder Analogen davon erreicht. Als Thiolverbindung ist auch Glutathion als günstig zu nennen. Ebenso sind N-Acetyl-Cystein und Homocystein sowie ein Thiazolidin-Derivat des Cysteins, z.B. 2-Oxo-4-thiozolidincarboxylat, als besonders geeignet zu erwähnen.

Erfindungsgemäß kann die aktive Verbindung allein oder in einem Mittel verabreicht werden. Im ersteren Fall bieten sich übliche Darreichungsformen an. Liegt die aktive Verbindung in einem Mittel vor, so enthält dieses übliche Hilfsstoffe.

In bevorzugter Ausführungsform enthält das erfindungsgemäß verwendete Mittel eine Substanz, die die Aufnahme der aktiven Verbindung(en) durch die Zelle verbessert. Hierfür können übliche Substanzen verwendet werden, die den Stofftransport in die Zelle erleichtern. Vorzugsweise werden Liposome verwendet, in deren Lumen die aktive(n) Verbindung(en) eingebaut werden. Die Herstellung von Liposomen erfolgt nach üblichen, in der Literatur beschriebenen Verfahren.

In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform weist das erfindungsgemäß verwendete Mittel eine Substanz auf, die die Wirksamkeit der aktiven Verbindung(en) erhöht. Eine solche Substanz ist z.B. ein Hormon, wie Insulin oder Insulin-ähnlicher Wachstumsfaktor, ein Vitamin, ein Nährstoff, wie Glukose, oder eine Aminosäure, ein Cytokin, ein Lymphokin, wie Interleukin 2, oder ein übliches immunstimulierendes Medikament.

Das erfindungsgemäß verwendete Mittel enthält zweckmäßig 5-95, vorzugsweise 30-70 und insbesondere 40-60 Gew.-% an aktiver Verbindung bzw. aktiven Verbindungen und 95-5, vorzugsweise 70-30 und insbesondere 60-30 Gew.-% an üblichen Hilfsstoffen. Das Mittel kann nach üblichen Arten, wie oral, parenteral oder lokal, appliziert werden, wobei die orale Applikation bevorzugt ist. Ferner kann das Mittel in üblichen Formen, wie als Lösung, Suspension, Emulsion, Pulver, Tablette, Kapsel oder Salbe appliziert werden, wobei magensaft-resistente Kapseln bevorzugt sind. Des weiteren können als Hilfsstoffe die üblichen, wie Arzneimittelträger, Bindemittel, Sprengmittel, Gleitmittel, Lösungsmittel, Lösungsvermittler, Freigabe-Beschleuniger, Freigabe-Verzögerer, Emulgatoren, Stabilisatoren (z.B. Antioxidantien, Puffer), Färbemittel oder Geschmackskorrigentien verwendet werden. Als Lösungsmittel ist Pyrogen-freies Wasser oder physiologische Kochsalzlösung bevorzugt, wobei sich eine Konzentration von 10^{-5} - 10^{-1} , vorzugsweise 10^{-3} - 10^{-2} , g aktive Verbindung(en) pro Liter anbietet.

Die Dosierung der allein oder in einem Mittel verwendeten aktiven Verbindung(en) liegt zweckmäßig bei 20mg - 5g, vorzugsweise 100mg - 4g und insbesondere 2x200mg pro Tag. Eine hiervon abweichende Dosierung kann jedoch im Einzelfall geboten sein und vom Fachmann leicht bestimmt werden.

Mit den erfindungsgemäß verwendeten aktiven Verbindungen und den sie enthaltenden Mitteln ist es möglich, Immunreaktionen gegen hohe Dosen von Antigen, d.h. unter Bedingungen einer excessiven Stimulation, wie bei fortgeschrittenen Tumorerkrankungen, zu stärken. Desweiteren kann mit ihnen die Zahl der T-Lymphozyten erhöht und damit das Immunsystem gestärkt werden, unabhängig von einer konkreten Erkrankung. Ferner können mit den erfindungsgemäß verwendeten aktiven Verbindungen und den sie enthaltenden Mitteln Immunschwäche-Erscheinungen behandelt werden, die als Komplikation bei Krebs- und Infektionserkrankungen und auch im Alter auftreten. Darüber hinaus können mit ihnen auch gesunde Menschen behandelt werden, wodurch eine

Stärkung^c der Infektoresistenz erzielt werden kann.

Die folgenden Beispiele erläutern die Erfindung.

Beispiel 1

Wirkung von N-Acetyl-Cystein auf die Zahl der T-Lymphozyten von Versuchspersonen

N-Acetyl-Cystein wurde 4 Wochen 6 gesunden männlichen Personen im Alter zwischen 40 und 60 Jahren verabreicht, und zwar in einer Dosierung von 2x200mg 3 mal wöchentlich. Die Studie wurde randomisiert und doppelblind mit einer 7 Personen umfassenden Plazebogruppe durchgeführt. Während dieser 4 Wochen führten die Probanden ein umfangreiches Sportprogramm mit einer definierten, im wesentlichen anaeroben Belastung namentlich der Armmuskulatur durch. Gemessen wurde u.a. die Zahl der CD4⁺ und CD8⁺ T-Lymphozyten mit Hilfe von spezifischen Antikörpern nach einem in der Klinik gut etablierten Verfahren.

Die Ergebnisse in der Tabelle zeigen, daß die Zahl von CD4⁺ und CD8⁺ T-Lymphozyten sich bei den Probanden der Plazebogruppe im Durchschnitt um ca. 20 % verringert. Diese Verringerung der T-Lymphozyten ist eine Konsequenz der intensiven sportlichen Belastung. Die mit N-Acetyl-Cystein behandelte Gruppe zeigt jedoch trotz der gleichstarken Belastung eine deutliche Zunahme der T-Lymphozyten und zwar um 19% bei den CD4⁺ T-Zellen und um 35 % bei den CD8⁺ T-Zellen. Der Unterschied zur Plazebogruppe ist in beiden Fällen signifikant ($P < .05$ bzw. $P < 01$).

Tabelle: Wirkung von N-Acetyl-Cystein auf die T-Zell-Zahlen

Proband Nr	Alter (Jahre)	CD4 ⁺ T Zellen (% Änderung)	CD8 ⁺ T Zellen (% Änderung)
<hr/>			
Plazebo (40-59 Jahre)			
1	40	-21	-39
2	44	-5	-37
3	50	23	12
4	52	-8	16
5	54	-47	-63
6	56	-47	2
7	59	-37	-37
Durchschnitt	50.71±2.53	-20±10 ^{b)}	-21±12 ^{b)}
NAC (40-59 Jahre)			
8	45	-27	14
9	47	34	-24
10	52	-9	26
11	54	52	25
12	57	36	106
13	59	27	64
Durchschnitt	52.33±2.25	+19±12 ^{a)}	+35±18 ^{a)}

Statistische Signifikanz (Wilcoxon Rank Summentest)
für a) größer als b): P < .05 P < .01

Beispiel 2

Wirkung von L-Cystein auf die Aktivierung von Tumor-spezifischen zytotoxischen T-Lymphozyten in Mäusen mit einem lebendem Tumor

C57BL/6 Mäuse wurden mit 3×10^6 Zellen des Methylcholantren-induzierten Fibrosarkoms MCA-105 subkutan gespritzt. Gruppen von jeweils 3 Tumor-tragenden Tieren erhielten überdies am Tag der Tumordinokulation sowie an den darauffolgenden 5 Tagen intraperitoneale Injektionen von 0,5 ml gepufferter physiologischer Kochsalzlösung mit den angegebenen täglichen Dosen von L-Cystein. Zehn Tage nach der Inokulation der Tumorzellen wurden die Mäuse getötet. Von den jeweiligen Gruppen wurden 1×10^7 (gesammelte Milzzellen mit 5×10^5 Mitomycin-C behandelten MCA-105 Tumorzellen in 5 ml Kulturen für 5 Tage inkubiert und anschließend auf zytotoxische Aktivität gegen ^{51}Cr -markierte MCA-105 Tumorzellen sowie gegen entsprechend markierte Zellen des ebenfalls Methylcholantren erzeugten Fibrosarkoms PFS und gegen markierte Zellen des DBA/2 T-Zell-Lymphoms L5178Y ESb untersucht.

Die Ergebnisse in der Figur zeigen, daß die wiederholte Injektion von Cystein die Aktivierung von zytotoxischen T-Zellen gegen den MCA-105 Tumor substantiell verstärkt. Die in Gegenwart von Cystein potenzierte zytotoxische Aktivität ist spezifisch für den genannten Tumor, da die spezifische Lyse bei den anderen beiden Zielzellen unter 10 % bzw. unter 3 % lag (diese Daten sind nicht gezeigt).

Patentansprüche

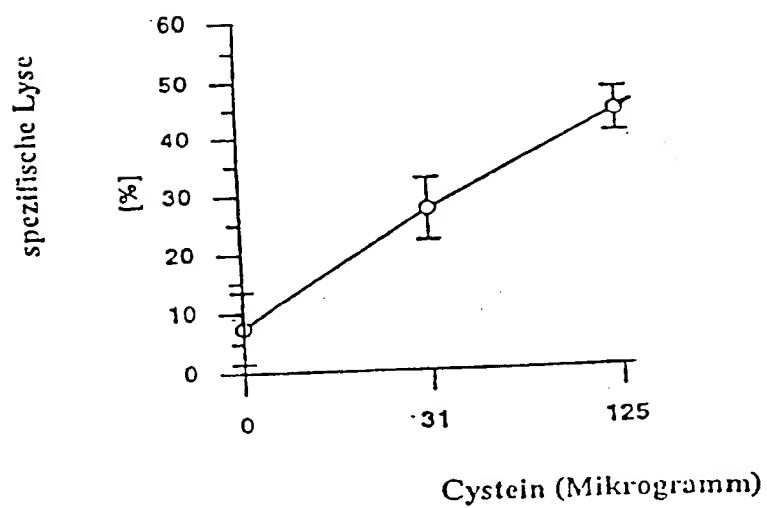
1. Verwendung einer Thiolverbindung, insbesondere Cystein, einem Derivat und/oder Analogon davon als Mittel zur Stärkung des Immunsystems und von Immunreaktionen.
2. Verwendung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die aktive Verbindung N-Acetyl-Cystein ist.
3. Verwendung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die aktive Verbindung Homocystein ist.
4. Verwendung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die aktive Verbindung Glutathion ist.
5. Verwendung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die aktive Verbindung ein Thiazolidin-Derivat des Cysteins ist.
6. Verwendung nach Anspruch 5, dadurch gekennzeichnet, daß das Thiazolidin-Derivat 2-Oxo-4-thiazolidincarboxylat ist.
7. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 - 6, dadurch gekennzeichnet, daß das Mittel eine Substanz zur verbesserten Zellaufnahme der aktiven Verbindung(en) enthält.
8. Verwendung nach Anspruch 7, dadurch gekennzeichnet, daß die Substanz ein Liposom ist.
9. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 - 8, dadurch gekennzeichnet, daß das Mittel eine die Wirksamkeit der aktiven Verbindung(en) fördernde Substanz enthält.

10. Verwendung nach Anspruch 9, dadurch gekennzeichnet, daß die Substanz ein Hormon, Vitamin, Nährstoff, Cytokin, Lymphokin oder übliches immunstimulierendes Medikament ist.

1/1

FIGUR

Wirkung von L-Cystein auf die Aktivierung von Tumor-spezifischen
zytotoxischen T-Lymphozyten in Tumor-tragenden Mäusen



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Internat'l Application No

PCT/EP 94/02946

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 6 A61K31/195 A61K31/425 A61K38/06

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 6 A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
P,X	EP,A,0 609 701 (AJINOMOTO CO.) 10 August 1994 see the whole document ---	1,9,10
P,X	FASEB JOURNAL, vol.8, no.6, April 1994 pages 448 - 451 R. KINSCHERF ET AL. 'EFFECT OF GLUTATHIONE DEPLETION AND ORAL N-ACETYL-CYSTEINE TREATMENT ON CD4+ AND CD8+ CELLS' see the whole document --- -/--	1-4

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents:

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

T later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

- *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

A document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

18 November 1994

Date of mailing of the international search report

20.12.94

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Hoff, P

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Intern. Application No
PCT/EP 94/02946

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	<p>PROC. NATL. ACAD. SCI., vol.87, no.9, 1990 pages 3343 - 3347 M. SUTHANTHIRAN ET AL. 'GLUTATHIONE REGULATES ACTIVATION-DEPENDENT DNA SYNTHESIS IN HIGHLY PURIFIED NORMAL HUMAN T LYMPHOCYTES STIMULATED VIA THE CD2 AND CD3 ANTIGENS' see abstract see page 3346 - page 3347 ---</p>	1-6
X	<p>THE AMERICAN JOURNAL OF MEDICINE, vol.91, no.3C, 1991 pages 140S - 144S W. DROGE ET AL. 'MODULATION OF LYMPHOCYTE FUNCTIONS AND IMMUNE RESPONSES BY CYSTEINE AND CYSTEINE DERIVATIVES' see the whole document ---</p>	1-6
X	<p>IMMUNOLOGY TODAY, vol.13, no.6, 1992 pages 211 - 214 W. DROGE ET AL. 'HIV-INDUCED CYSTEINE DEFICIENCY AND T-CELL DYSFUNCTION- A RATIONALE FOR TREATMENT WITH N-ACETYLCYSTEINE' see the whole document ---</p>	1-3
X	<p>AIDS, vol.6, no.8, 1992 pages 815 - 819 B. DE QUAY ET AL. 'GLUTATHIONE DEPLETION IN HIV-INFECTED PATIENTS: ROLE OF CYSTEINE DEFICIENCY AND EFFECT OF ORAL N-ACETYLCYSTEINE' ---</p>	1-3
X	<p>PHARMACOLOGY, vol.46, no.2, February 1993 pages 61 - 65 W. DROGE 'CYSTEINE AND GLUTATHIONE DEFICIENCY IN AIDS PATIENTS: A RATIONALE FOR THE TREATMENT WITH N-ACETYL-CYSTEINE' see the whole document ---</p>	1-3
X	<p>INTERNATIONAL IMMUNOLOGY, vol.5, no.1, January 1993 pages 97 - 101 E. EYLAR ET AL. 'N-ACETYLCYSTEINE ENHANCES T CELL FUNCTIONS AND T CELL GROWTH IN CULTURE' see the whole document ---</p>	1,2

-/--

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Intern. Appl. Application No.

PCT/EP 94/02946

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	<p>CURRENT THERAPEUTIC RESEARCH, vol.52, no.3, 1992 pages 461 - 467 G. GIORGI ET AL. 'L-2-OXOTHIAZOLIDINE-4-CARBOXYLIC ACID AND GLUTATHIONE IN HUMAN IMMUNODEFICIENCY VIRUS' see the whole document ---</p>	1,4,5
X	<p>IMMUNOLOGY, vol.61, no.4, 1987 pages 503 - 508 R.K. FIDELUS ET AL. 'GLUTATHIONE AND LYMPHOCYTE ACTIVATION: A FUNCTION OF AGEING AND AUTO-IMMUNE DISEASE' see the whole document ---</p>	1,4,5
X	<p>IMMUNOBIOLOGY, vol.172, no.1-2, 1986 pages 151 - 156 W. DROGE ET AL. 'GLUTATHIONE AUGMENTS THE ACTIVATION OF CYTOTOXIC T LYMPHOCYTES IN VIVO' see the whole document ---</p>	1,4
X	<p>THE JAPANESE JOURNAL OF PHARMACOLOGY, vol.30, 1980 page 82P H. OHMORI ET AL. 'THE IMMUNO-POTENTIATING ACTIVITIES OF 2-MERCAPTOETHANOL I. MITOGENICITY OF 2-ME AND OTHER THIOL COMPOUNDS AND THEIR EFFECTS ON MITOGEN-INDUCED PROLIFERATIVE RESPONSES' see the whole document ---</p>	1,4
X	<p>DATABASE WPI Week 8804, Derwent Publications Ltd., London, GB; AN 88-025682 'PHAGOCYTOSIS-POTENTIATING AGENT -CONTAINS CYSTEINE AND /OR PROLINE AS MAIN COMPONENTS' & JP,A,62 286 923 (SHIDA T) 12 December 1987 see abstract ---</p>	1
X	<p>DATABASE WPI Week 8934, Derwent Publications Ltd., London, GB; AN 89-246734 & RO,A,96 597 (INST. CERC. CHIMICO-FARMAC) 30 March 1989 see abstract ---</p>	1,9,10

-/--

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Intern. Appl. No.

PCT/EP 94/02946

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO,A,91 18594 (AKTIBOLAGET ASTRA) 12 December 1991 see abstract see page 6, line 5 - line 17 -----	1,2

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/EP94/02946

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
See annex
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

6
Annex to I.1.

Observation: Although claims 1-10 relate to a method for treatment of the human or animal body, the search was carried out based on the indicated effects of the compound/composition.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

Intern. al Application No

PCT/EP 94/02946

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
EP-A-0609701	10-08-94	JP-A- 6279276	04-10-94

WO-A-9118594	12-12-91	AU-B- 652946	15-09-94
		AU-A- 8094191	31-12-91
		EP-A- 0532595	24-03-93
		AU-B- 642259	14-10-93
		CA-A- 2045289	29-12-91
		CN-A- 1057647	08-01-92
		EP-A- 0463514	02-01-92
		JP-A- 4230359	19-08-92
		NZ-A- 238306	25-02-94

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Intern. Aktenzeichen

PCT/EP 94/02946

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
IPK 6 A61K31/195 A61K31/425 A61K38/06

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierte Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)
IPK 6 A61K

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
P,X	EP,A,0 609 701 (AJINOMOTO CO.) 10. August 1994 siehe das ganze Dokument ---	1,9,10
P,X	FASEB JOURNAL, Bd.8, Nr.6, April 1994 Seiten 448 - 451 R. KINSCHERF ET AL. 'EFFECT OF GLUTATHIONE DEPLETION AND ORAL N-ACETYL-CYSTEINE TREATMENT ON CD4+ AND CD8+ CELLS' siehe das ganze Dokument --- -/-	1-4

☒ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen☒ Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung, die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung, die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

"&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

18. November 1994

Abschließdatum des internationalen Recherchenberichts

20. 12. 94

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+ 31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax (+ 31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Hoff, P

C(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	<p>PROC. NATL. ACAD. SCI., Bd.87, Nr.9, 1990 Seiten 3343 - 3347 M. SUTHANTHIRAN ET AL. 'GLUTATHIONE REGULATES ACTIVATION-DEPENDENT DNA SYNTHESIS IN HIGHLY PURIFIED NORMAL HUMAN T LYMPHOCYTES STIMULATED VIA THE CD2 AND CD3 ANTIGENS' siehe Zusammenfassung siehe Seite 3346 - Seite 3347 ---</p>	1-6
X	<p>THE AMERICAN JOURNAL OF MEDICINE, Bd.91, Nr.3C, 1991 Seiten 140S - 144S W. DROGE ET AL. 'MODULATION OF LYMPHOCYTE FUNCTIONS AND IMMUNE RESPONSES BY CYSTEINE AND CYSTEINE DERIVATIVES' siehe das ganze Dokument ---</p>	1-6
X	<p>IMMUNOLOGY TODAY, Bd.13, Nr.6, 1992 Seiten 211 - 214 W. DROGE ET AL. 'HIV-INDUCED CYSTEINE DEFICIENCY AND T-CELL DYSFUNCTION- A RATIONALE FOR TREATMENT WITH N-ACETYL-CYSTEINE' siehe das ganze Dokument ---</p>	1-3
X	<p>AIDS, Bd.6, Nr.8, 1992 Seiten 815 - 819 B. DE QUAY ET AL. 'GLUTATHIONE DEPLETION IN HIV-INFECTED PATIENTS: ROLE OF CYSTEINE DEFICIENCY AND EFFECT OF ORAL N-ACETYL-CYSTEINE' ---</p>	1-3
X	<p>PHARMACOLOGY, Bd.46, Nr.2, Februar 1993 Seiten 61 - 65 W. DROGE 'CYSTEINE AND GLUTATHIONE DEFICIENCY IN AIDS PATIENTS: A RATIONALE FOR THE TREATMENT WITH N-ACETYL-CYSTEINE' siehe das ganze Dokument ---</p>	1-3
X	<p>INTERNATIONAL IMMUNOLOGY, Bd.5, Nr.1, Januar 1993 Seiten 97 - 101 E. EYLAR ET AL. 'N-ACETYL-CYSTEINE ENHANCES T CELL FUNCTIONS AND T CELL GROWTH IN CULTURE' siehe das ganze Dokument ---</p>	1,2

-/--

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	CURRENT THERAPEUTIC RESEARCH, Bd.52, Nr.3, 1992 Seiten 461 - 467 G. GIORGI ET AL. 'L-2-OXOTHIAZOLIDINE-4-CARBOXYLIC ACID AND GLUTATHIONE IN HUMAN IMMUNODEFICIENCY VIRUS' siehe das ganze Dokument ---	1,4,5
X	IMMUNOLOGY, Bd.61, Nr.4, 1987 Seiten 503 - 508 R.K. FIDELUS ET AL. 'GLUTATHIONE AND LYMPHOCYTE ACTIVATION: A FUNCTION OF AGEING AND AUTO-IMMUNE DISEASE' siehe das ganze Dokument ---	1,4,5
X	IMMUNOBIOLOGY, Bd.172, Nr.1-2, 1986 Seiten 151 - 156 W. DROGE ET AL. 'GLUTATHIONE AUGMENTS THE ACTIVATION OF CYTOTOXIC T LYMPHOCYTES IN VIVO' siehe das ganze Dokument ---	1,4
X	THE JAPANESE JOURNAL OF PHARMACOLOGY, Bd.30, 1980 Seite 82P H. OHMORI ET AL. 'THE IMMUNO-POTENTIATING ACTIVITIES OF 2-MERCAPTOETHANOL I. MITOGENICITY OF 2-ME AND OTHER THIOL COMPOUNDS AND THEIR EFFECTS ON MITOGEN-INDUCED PROLIFERATIVE RESPONSES' siehe das ganze Dokument ---	1,4
X	DATABASE WPI Week 8804, Derwent Publications Ltd., London, GB; AN 88-025682 'PHAGOCYTOSIS-POTENTIATING AGENT -CONTAINS CYSTEINE AND /OR PROLINE AS MAIN COMPONENTS' & JP,A,62 286 923 (SHIDA T) 12. Dezember 1987 siehe Zusammenfassung ---	1
X	DATABASE WPI Week 8934, Derwent Publications Ltd., London, GB; AN 89-246734 & RO,A,96 597 (INST. CERC. CHIMICO-FARMAC) 30. März 1989 siehe Zusammenfassung ---	1,9,10

-/--

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	WO,A, ⁶ 91 18594 (AKTIBOLAGET ASTRA) 12. Dezember 1991 siehe Zusammenfassung siehe Seite 6, Zeile 5 - Zeile 17 -----	1,2

Feld I Bemerkungen zu den Ansprüchen, die sich als nicht recherchierbar erwiesen haben (Fortsetzung von Punkt 1 auf Blatt 1)

Gemäß Artikel 17(2)a) wurde aus folgenden Gründen für bestimmte Ansprüche kein Recherchenbericht erstellt:

1. ☒ Ansprüche Nr.
weil sie sich auf Gegenstände beziehen, zu deren Recherche die Behörde nicht verpflichtet ist, nämlich
Siehe Anhang
2. ☐ Ansprüche Nr.
weil sie sich auf Teile der internationalen Anmeldung beziehen, die den vorgeschriebenen Anforderungen so wenig entsprechen,
daß eine sinnvolle internationale Recherche nicht durchgeführt werden kann, nämlich
3. ☐ Ansprüche Nr.
weil es sich dabei um abhängige Ansprüche handelt, die nicht entsprechend Satz 2 und 3 der Regel 6.4 a) abgefaßt sind.

Feld II Bemerkungen bei mangelnder Einheitlichkeit der Erfindung (Fortsetzung von Punkt 2 auf Blatt 1)

Die internationale Recherchenbehörde hat festgestellt, daß diese internationale Anmeldung mehrere Erfindungen enthält:

1. ☐ Da der Anmelder alle erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht auf alle recherchierbaren Ansprüche der internationalen Anmeldung.
2. ☐ Da für alle recherchierbaren Ansprüche die Recherche ohne einen Arbeitsaufwand durchgeführt werden konnte, der eine zusätzliche Recherchegebühr gerechtfertigt hätte, hat die Internationale Recherchenbehörde nicht zur Zahlung einer solchen Gebühr aufgefordert.
3. ☐ Da der Anmelder nur einige der erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht nur auf die Ansprüche der internationalen Anmeldung, für die Gebühren entrichtet worden sind, nämlich auf die Ansprüche Nr.
4. ☐ Der Anmelder hat die erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren nicht rechtzeitig entrichtet. Der internationale Recherchenbericht beschränkt sich daher auf die in den Ansprüchen zuerst erwähnte Erfindung; diese ist in folgenden Ansprüchen erfaßt:

Bemerkungen hinsichtlich eines Widerspruchs

- ☐ Die zusätzlichen Gebühren wurden vom Anmelder unter Widerspruch gezahlt.
- ☐ Die Zahlung zusätzlicher Gebühren erfolgte ohne Widerspruch.

WEITERE ANGABEN₈

PCT/ISA/ 210

Anhang Feld I.1

Bemerkung : Obwohl die Ansprüche 1-10 sich auf ein Verfahren zur Behandlung des menschlichen/tierischen Körpers beziehen, wurde die Recherche durchgeführt und gründete sich auf die angeführten Wirkungen der Verbindung/Zusammensetzung.

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Intern. Aktenzeichen

PCT/EP 94/02946

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
EP-A-0609701	10-08-94	JP-A- 6279276	04-10-94
WO-A-9118594	12-12-91	AU-B- 652946	15-09-94
		AU-A- 8094191	31-12-91
		EP-A- 0532595	24-03-93
		AU-B- 642259	14-10-93
		CA-A- 2045289	29-12-91
		CN-A- 1057647	08-01-92
		EP-A- 0463514	02-01-92
		JP-A- 4230359	19-08-92
		NZ-A- 238306	25-02-94

